

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TEMPO, TEMPERATURA E USO DO  
FLUORETO DE SÓDIO EM AMOSTRAS DESTINADAS A DOSAGEM DE  
GLICOSE SANGUÍNEA EM GALINHAS (*Gallus gallus domesticus*) E  
CODORNAS JAPONESAS (*Coturnix coturnix japonica*)**

**DÉBORA FERREIRA DOS SANTOS ANGELO**

**Areia, 2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TEMPO, TEMPERATURA E USO DO  
FLUORETO DE SÓDIO EM AMOSTRAS DESTINADAS A DOSAGEM DE  
GLICOSE SANGUÍNEA EM GALINHAS (*Gallus gallus domesticus*) E  
CODORNAS JAPONESAS (*Coturnix coturnix japonica*)**

**DÉBORA FERREIRA DOS SANTOS ANGELO**

**Trabalho de conclusão de curso  
apresentado como requisito parcial para  
obtenção do título de Bacharel em  
Medicina Veterinária pela Universidade  
Federal da Paraíba, sob orientação da  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Fabiana Satake.**

**Areia, 2016.**

*Dedico este trabalho primeiramente a Deus, que com seu Amor sem limites me deu a vida, e me trouxe até aqui. Também a minha mãe, Penha, e avós maternos, Maria e José, que formaram a pessoa que sou hoje, e que possibilitaram a realização de tantos sonhos.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, Ele que é o autor primeiro de todas as coisas.

À minha orientadora do TCC, professora Fabiana Satake, por sua confiança, atenção e exemplos, que me conduzem como profissional.

À meu orientador de Extensão, professor Luiz Eduardo Carvalho Buquera, por seus ensinamentos, conselhos, confiança e incentivo, que me fizeram crescer como estudante e como pessoa.

À minha amiga, Maria das Graças, que me orientou e fez esse trabalho se materializar.

Aos meus “velhos amigos”, Ana Clarisse, Alexandra Melo, Ayrton Senna e Maria do Carmo, e meu namorado, Jackson dos Santos, que são como rochas que me sustentam em tantas dificuldades, e que me conduziram tantas vezes a estar mais próxima de Deus.

Às demais pessoas que contribuíram com esse trabalho: Edjânio Galdino, Rafanele Trajano, Ricardo Pereira (*in memoriam*), Vinícius Mendes, Maurílio Kennedy e Rafael Lima.

À todos os professores que fizeram parte da minha formação acadêmica.

Aos animais.

***Muito obrigada!***

***“Ainda que eu fale a língua dos homens e dos anjos, se eu não tenho Amor,  
sou como sino ruidoso ou como címbalo estridente”***

(1 Coríntios 13:1, Bíblia Sagrada)

***“Desistir... eu já pensei seriamente nisso, mas nunca me levei realmente a sério; é que tem  
mais chão nos meus olhos do que o cansaço nas minhas pernas, mais esperança nos meus  
passos, do que tristeza nos meus ombros, mais estrada no meu coração do que medo na  
minha cabeça. ”***

(Cora Carolina)

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
<b>FIGURA 1.</b> Via glicolítica.....	18
<b>FIGURA 2.</b> Colheita de sangue por punção cardíaca em codorna japonesa ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ).....	21
<b>FIGURA 3.</b> Colheita de sangue por punção da veia basílica em galinha poedeira ( <i>Gallus gallus domesticus</i> ).....	22
<b>FIGURA 4.</b> Valores médios e desvio-padrão do consumo <i>in vitro</i> de glicose por hora, em amostras de soro de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) e galinhas ( <i>Gallus gallus domesticus</i> ), mantidas em temperatura ambiente, em diferentes tempos.....	24
<b>FIGURA 5.</b> Valores médios e desvio-padrão do consumo médio de glicose <i>in vitro</i> por hora em amostras de soro de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) e galinhas ( <i>Gallus gallus domesticus</i> ), mantidas em incubação à 37° C, por diferentes tempos.....	26

## LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
<b>TABELA 1.</b> Valores médios seguidos do desvio-padrão das dosagens de glicose <i>in vitro</i> em amostras de plasma e soro de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) e galinhas ( <i>Gallus gallus domesticus</i> ), mantidas em temperatura ambiente por diferentes tempos de tratamento e com fluoreto de sódio.....	24
<b>TABELA 2.</b> Valores médios seguidos do desvio-padrão do consumo de glicose em amostras plasma com fluoreto de sódio e soro, de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) e galinhas ( <i>Gallus gallus domesticus</i> ), mantidas em temperatura ambiente em diferentes tempos de tratamento.....	25
<b>TABELA 3.</b> Valores médios seguidos do desvio-padrão das dosagens de glicose <i>in vitro</i> em amostras de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) e galinhas ( <i>Gallus gallus domesticus</i> ), mantidas incubadas em banho-maria à 37° C por diferentes tempos de tratamento e com fluoreto de sódio.....	26
<b>TABELA 4.</b> Valores médios seguidos do desvio-padrão do consumo acumulado de glicose em amostras de plasma com fluoreto de sódio e soro, de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) e galinhas ( <i>Gallus gallus domesticus</i> ), mantidas em incubação à 37° C, em diferentes tempos de tratamento.....	27
<b>TABELA 5.</b> Valores médios seguidos do desvio-padrão do consumo total de glicose em até duas horas de amostras de soro de codornas japonesas ( <i>Coturnix coturnix japonica</i> ) e galinhas ( <i>Gallus gallus domesticus</i> ), mantidas até duas horas em temperatura ambiente e em incubação de 37°C.....	27

## RESUMO

ANGELO, Débora Ferreira dos Santos, **Universidade Federal da Paraíba**, dezembro de 2016. AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TEMPO, TEMPERATURA E USO DO FLUORETO DE SÓDIO EM AMOSTRAS DESTINADAS A DOSAGEM DE GLICOSE SANGUÍNEA EM GALINHAS (*Gallus gallus domesticus*) E CODORNAS JAPONESAS (*Coturnix coturnix japonica*). Orientadora: Fabiana Satake.

Os exames laboratoriais do sangue são ferramentas de grande valor para a clínica médica de aves, e a aferição da glicemia é um dos testes bioquímicos comumente utilizados. Na maior parte das espécies animais, a diminuição da concentração de glicose *in vitro* está relacionada à atividade glicolítica dos eritrócitos. Nas aves, no entanto, isso não ocorre, pois essas células utilizam ácidos graxos como fonte de energia. Apesar da hematologia e bioquímica aviária serem semelhantes à humana e de outros mamíferos, algumas particularidades como, a presença de hemácias nucleadas, trombócitos, granulócitos heterófilos e o metabolismo eritrocitário diferenciado, fazem necessárias modificações nos procedimentos laboratoriais. Existindo ainda poucos estudos que esclarecem os aspectos básicos ligados à fisiologia e, avaliação clínico-laboratorial desses animais. Neste trabalho, objetivou-se analisar o efeito do tempo, temperatura e uso do fluoreto de sódio em amostras destinadas a dosagem de glicose sanguínea em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) e codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). Através da dosagem da glicose de amostras de plasma e soro, separados em intervalos de tempo diferentes, e submetidas à temperatura controlada de 37° C e à temperatura ambiente. Da determinação das médias e desvio padrão da concentração de glicose das amostras de sangue com fluoreto de sódio e sem anticoagulante, separadas nos diferentes tempos e temperaturas. Também da observação da taxa de consumo médio relativo e consumo médio acumulado a cada intervalo de tempo. Sendo verificado uma menor concentração média ( $p<0,05$ ), e maior consumo médio relativo e acumulado de glicose ( $p<0,05$ ), nas amostras de plasma com fluoreto de sódio, que nas amostras de soro, mantidas em temperatura ambiente e sob incubação à 37°C, em diferentes tempos. Evidenciando, a ineficácia do fluoreto de sódio em preservar a glicose *in vitro*, além de um provável efeito catalizador na degradação desse nutriente.

**PALAVRAS-CHAVE:** glicose, metabolismo eritrocitário, aves, antiglicolítico.



## ABSTRACT

ANGELO, Débora Ferreira dos Santos, **Universidade Federal da Paraíba, December, 2016.**  
EVALUATION OF TIME EFFECT, TEMPERATURE AND USE OF SODIUM FLUORIDE IN SAMPLES INTENDED FOR BLOOD GLUCOSE DOSAGE IN CHICKENS (*Gallus gallus domesticus*) AND JAPANESE QUAILS (*Coturnix coturnix japonica*). Advisor: Fabiana Satake.

Laboratorial tests of blood are important tools for birds medical clinic, and glycemia dosage is one of the most common biochemical tests used. In most part of animal species, glucose concentration reduction in vitro is related to the glycolysis activity of the erythrocytes. In birds, on the other hand, that does not happen due to fatty acids use by these cells as energy source. In spite of hematology and biochemistry of birds being similar to human and other mammals, some particularities as the presence of nucleated red blood cells, thrombocytes, heterophile granulocytes and different erythrocyte metabolism make modifications on laboratorial procedures needed. There are few studies clarifying the basic aspects linked to the physiology and clinical-laboratorial evaluation of these animals. This paper aims to evaluate time effect, temperature and use of sodium fluoride in samples intended for blood glucose dosage in chickens (*Gallus gallus domesticus*) and japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) by calibrating glucose in plasma and serum samples, separated in different time intervals, and incubated at 37°C and at room temperature. It was determined the glucose concentration means and standard deviations of blood samples with sodium fluoride without anticoagulant, separated by time and temperature. It was also observed relative average consumption and cumulative average consumption rates of each time interval. It was verified a lower average concentration ( $p<0,05$ ), and a higher relative and cumulative average consumption of glucose ( $p<0,05$ ) in plasma samples with sodium fluoride than in serum samples, kept at room temperature and incubated at 37°C, during different times. Thus, this paper enhances the sodium fluoride ineffectiveness on preserving glucose in vitro, besides a probable catalytic effect on the lysis of this nutrient.

**KEY WORDS:** glucose, erythrocyte metabolism, birds, anti-glycolytic.

## SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1 Medicina de aves.....	13
2.2 O sangue e a glicólise eritrocitária.....	16
3. OBJETIVOS.....	20
3.1 Objetivo geral.....	20
3.2 Objetivos específicos.....	20
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1 Animais experimentais.....	21
4.2 Colheita de sangue e processamento das amostras.....	21
4.3 Análises bioquímicas.....	23
4.4 Análise estatística.....	23
5. RESULTADOS .....	24
6. DISCUSSÃO.....	28
7. CONCLUSÃO.....	30
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

## 1. INTRODUÇÃO

A glicose é um carboidrato frequentemente utilizado pelas células do organismo como fonte de energia (ALEIXO, 2010). Suas concentrações séricas variam muito, na maioria das espécies de aves está entre 200 a 500 mg/dL, mas em beija-flores, por exemplo, pode chegar normalmente até 800 mg/dL (SCHMIDT, 2007; THRALL, 2007). Nas aves sua homeostase sofre influência decisiva do glucagon, diferente do que ocorre em mamíferos, que depende primariamente da insulina, (CUBAS, 2007), o que está ligado, segundo Thrall (2007), ao número relativamente grande de células alfa no pâncreas e baixa proporção insulina:glucagon em aves granívoras, em comparação com mamíferos.

Esses animais apresentam caracteristicamente, altos níveis séricos de glicose, no entanto, sua capacidade glicolítica no sangue é mínima, quando comparadas a outras espécies (ovinos, bovinos, equinos cobaias e cães) (ROSA, 1983; RIEGEL, 1975).

A mensuração da glicemia pode dar informações importantes sobre a condição nutricional de aves em tratamento, da ocorrência de doenças hipo e hiperglicemiantes e da eficiência de estratégias de manejo (NOVELINO, 2015). Porém são diversos os fatores que podem interferir nos resultados e interpretação dos exames bioquímicos, como a espécie, idade, sazonalidade, alimentação, habitat, estado reprodutivo, traumas, formas de contenção, manejo, estresse ambiental e sexo. E é necessário ainda, estudos referentes à adaptação das técnicas laboratoriais, bem como sobre o significado clínico dos resultados (VILA, 2013; CAMPIONI, 2009).

O esclarecimento a respeito do papel antiglicolítico do fluoreto de sódio nas amostras de sangue, pode inibir erros na determinação da glicemia, no diagnóstico e tratamento de doenças, além de aumentar a segurança desse teste bioquímico. Diante de tais questões este trabalho objetivou analisar o efeito do tempo, temperatura e uso do fluoreto de sódio em amostras destinadas a dosagem de glicose sanguínea em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) e codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Medicina de aves

Na medicina veterinária os primeiros estudos com aves visavam quase exclusivamente intensificar a produção animal. Antes de 1980, por exemplo, o estudo hematológico aviário era utilizado principalmente em pesquisas aplicadas às indústrias de aves domésticas (THRALL *et al.*, 2007). Hoje, no entanto, estão em foco também a clínica médica de aves, a preservação da avifauna e o desenvolvimento de pesquisas que esclareçam as diversas particularidades fisiológicas, patológicas, bioquímicas, comportamentais, e tantas outras, desses animais (VILA, 2013).

A indústria aviária do Brasil tem atualmente alta produtividade, baseada em um sistema técnico-científico avançado, e valor econômico global indiscutível, mantendo nosso país como maior exportador de carne de frango do mundo (BERCHIERE JÚNIOR *et al.*, 2009; BRASIL, 2016). A avifauna brasileira está entre as maiores do mundo quanto à sua diversidade, sendo composta por mais de 1700 espécies, das quais mais de 10% são endêmicas, tornando assim imprescindíveis os investimentos para conservação e compreensão da fisiologia desses animais (EFE *et al.*, 2006).

As doenças nas aves são um fator que preocupa a população como um todo, levando em conta seu papel como transmissores e reservatórios de numerosos patógenos (CAMPIONE, 2004). Por isso a importância em se conhecer as particularidades diagnósticas desses animais (VILA, 2013). A princípio, os procedimentos diagnósticos utilizados na avicultura eram baseados na necrópsia de alguns indivíduos do lote e apenas, ocasionalmente, se fazia testes bioquímicos (CUBAS, 2007). Hoje são diversos os exames disponíveis, incluindo testes imunológicos, moleculares, bioquímicos, microbiológicos, histopatológicos e hematológicos (BERCHIERE JÚNIOR *et al.*, 2009). Os exames hematológicos e bioquímicos do sangue demonstram o estado fisiológico dos animais, por refletirem reações imunológicas e o funcionamento de órgãos, entre outras coisas, evidenciando a capacidade do organismo em manter sua homeostasia (SCHMIDT *et al.*, 2007). Neste contexto, são capazes de fornecer, rapidamente, informações importantes para o médico veterinário (RUPLEY, 1999).

Por isso, na medicina de aves silvestres, os exames hematológicos e bioquímicos são considerados ferramentas de diagnóstico, prevenção de doenças e também como marcadores biológicos de desequilíbrios ambientais, uma vez que o meio ambiente influencia a vida dos seres que ali estão (CUBAS, 1999). Eles também podem ajudar o médico veterinário a

conseguir um diagnóstico precoce, principalmente quando se trata de uma doença subclínica. Sendo esse um aspecto importante, pois as aves silvestres raramente apresentam sinais de enfermidade, até estarem muito afetadas (CAMPIONE, 2004; RUPLEY, 1999). Além de possibilitarem um tratamento correto e imediato das doenças, avaliação pré-operatória, criação de banco de dados de valores de referência para diferentes espécies, e auxiliar na profilaxia de enfermidades no setor de avicultura (SCHMIDT *et al.*, 2007; RUPLEY, 1999; CUBAS, 2007).

Apesar de não serem comuns, como em mamíferos, existem diversas doenças ou circunstâncias que podem ocasionar diminuição ou aumento da glicemia de aves e quando não são diagnosticadas e revertidas, podem gerar complicações com risco de morte para o paciente (ALEIXO, 2010). É considerada hipoglicemia, ou diminuição excessiva da concentração de glicose no sangue, quando a glicemia é menor que 200 mg/dL, enquanto a hiperglicemia é caracterizada por concentrações acima de 500 mg/dL, na maioria das espécies de aves (SCHMIDT *et al.*, 2007).

Nas aves a hipoglicemia pode estar associada a inanição, enterotoxemia, má digestão e absorção, má nutrição, hepatopatias, septicemia, neoplasias, aspergilose, deficiência de vitamina A e as endocrinopatias. Já a hiperglicemia pode ser causada por estresse, temperaturas extremas, diabetes mellitus, contenção física, administração de glicocorticoides e alimentação rica em carboidratos (RUPLEY, 1999; CUBAS, 2007; VILA, 2013; VALLE, 2008).

Entre as análises bioquímicas mais comuns na clínica de aves estão a determinação da concentração de proteínas totais, glicose, ácido úrico, fósforo, creatinina, ureia, sódio, potássio e cloretos e as atividades séricas aspartato aminotransferase, creatinaquinase e lactato desidrogenase (CUBAS, 2007).

Para realização dos testes bioquímicos pode-se usar uma amostra com anticoagulante, chamada plasma, ou o soro, obtido de uma amostra de sangue coagulado. São necessários em média, 2 a 3 mL de sangue para se conseguir 1mL de soro ou plasma. Porém, o plasma tem algumas vantagens, a principal é permitir obter volumes maiores da amostra. Além disso, o soro não é recomendado para testes bioquímicos enzimáticos, porque o processo de coagulação libera enzimas eritrocitárias que podem interferir nos resultados de determinados constituintes (VILA, 2013). Desta forma é necessário evitar a presença de hemácias em amostra de soro ou plasma, para evitar a ocorrência de hemólise, e possíveis interferências em alguns testes bioquímicos (VILA, 2013).

A colheita e análise sanguínea são possíveis mesmo nas aves muito pequenas. Pois, em geral é seguro colher até 1% do peso corporal de uma ave em sangue, a menos que o animal esteja anêmico ou hipovolêmico. Sendo esse limite em patos e pombos de até 3% do peso corporal e de 2% em frangos (CAMPIONE, 2009). A venopunção pode ser feita com agulhas de calibre 23 a 27 G. E as vias mais utilizadas para colheita de sangue em aves incluem as veias jugular (sendo a direita, de maior calibre), basílica (também chamada de alar), metatarsais mediais, seio venoso occipital, punção cardíaca e por meio de corte das unhas. Quando a colheita é feita na veia basílica, a contenção adequada inclui manter a asa do paciente estendida, para promover maior estabilidade e exposição do vaso. Fazer uma limpeza prévia do cotovelo medial (articulação umerorradial) com algodão embebido em álcool (70%), para diminuir sujidades e ajudar a visualização do vaso. Há possibilidade de garrotear a veia para aumentar a pressão em seu interior e seu calibre. E posterior à colheita deve ser aplicada uma pressão no local da venopunção para prevenir a formação de um hematoma, comum nas aves, mesmo utilizando técnica apropriada (RUPLEY, 1999).

Para obtenção de sangue total, e posterior separação do plasma deve-se utilizar um anticoagulante adequado, considerando que este não interfira na reação química, não acrescente, e nem remova substâncias a serem dosadas às amostras. Lembrando também de considerar a quantidade e forma de conservação dos anticoagulantes, para se evitar coagulação e gelificação do plasma (VILA, 2013). Entre as substâncias disponíveis estão o EDTA (ácido etilenodiaminotetracético de sódio ou de potássio), heparina, citrato de sódio e oxalato de potássio ou amônia e, para dosagem específica da glicose no sangue, é recomendado também o uso do fluoreto de sódio, que é uma substância antiglicolítica, e vem associada com o EDTA ou oxalato.

A ação anticoagulante do EDTA ocorre devido a quelação do cálcio do sangue. Sendo o cálcio necessário na cascata de coagulação, sua captação inibe a hemostasia. Ele é o anticoagulante de escolha para exames hematológicos pois preserva as características celulares (SCHMIDT *et al.*, 2007). Não é indicado para provas bioquímicas enzimáticas pois este anticoagulante é quelante de íons que podem ser necessários para a atividade de algumas enzimas e também pode causar lise celular em algumas aves (SCHMIDT *et al.*, 2007; RUPLEY, 1999).

O fluoreto de sódio (NaF) inibe a enolase, uma enzima que participa do nono passo da via glicolítica, e assim, interrompe a metabolização da glicose pelos eritrócitos e leucócitos.

Por ser considerado um anticoagulante de baixa eficiência, que não é capaz de interromper o processo de coagulação se usado isoladamente (CUBAS, 2007).

## **2.2.O sangue e a glicólise eritrocitária**

O sangue é dividido na parte líquida, composta pelo plasma, e pelos elementos figurados, compostos por leucócitos, hemácias e plaquetas, que podem ser separadas por meio da centrifugação (CUNNINGHAM, 2004). Ele funciona como carreador dos nutrientes necessários para o metabolismo de cada célula do organismo, bem como leva produtos do catabolismo para serem eliminados, transporta hormônios, mantém o equilíbrio de eletrólitos e água, possibilita o funcionamento do sistema imunológico, e ajuda a regular a temperatura corporal. O sistema circulatório das aves, assim como nos mamíferos, é um sistema fechado, com volume de sangue fixo, representando aproximadamente 7% do peso corporal do animal (BERCHIERE JÚNIOR *et al.*, 2009).

O plasma é o líquido acelular, composto por 93% de água, e 5 a 7% de moléculas proteicas. Porém, também fazem parte de sua constituição muitos íons, sendo o íon sódio ( $\text{Na}^+$ ) o cátion predominante, e o cloreto e bicarbonato (respectivamente  $\text{Cl}^-$  e  $\text{HCO}_3^-$ ) os ânions em maior abundância. Além disso, os íons potássio, hidrogênio, magnésio, hidrogenofosfato, dihidrogenofosfato e sulfato (respectivamente  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  e  $\text{SO}_4^{2-}$ ) presentes em menor quantidade, têm um papel crítico para o funcionamento normal do organismo. Existem ainda, pequenas quantidades de gases (oxigênio, gás carbônico e nitrogênio), substâncias nutrientes (glicose, aminoácidos, lipídeos e vitaminas), produtos do metabolismo (ureia, creatinina, ácido úrico, bilirrubina etc) e hormônios (insulina, adrenalina, tiroxina etc) dissolvidos no plasma (CUNNINGHAM, 2004).

Os leucócitos presentes no sangue das aves são os linfócitos, monócitos, basófilos, eosinófilos e heterófilos, sendo o último tipo o mais abundante na maioria das espécies. Eles se desenvolvem por mitose e diferenciação, a partir de uma linha comum de células progenitoras, as células-tronco pluripotentes. Os trombócitos são células nucleadas presentes no sangue periférico, que participam do processo de hemostasia, assim como acontece com as plaquetas de mamíferos (THRALL *et al.*, 2007; CUNNINGHAM, 2004).

Nessa classe de animais os eritrócitos maduros são elípticos e contêm um núcleo oval central. Quando jovens são redondos e com núcleo mais frouxo (RUPLEY, 1999). Compostas por 65% de água e 35% de sólidos (hemoglobina, proteínas, colesterol, fosfolipídeos e íons). Sua membrana plasmática é composta por uma bicamada fosfolipídica que representa 50% de

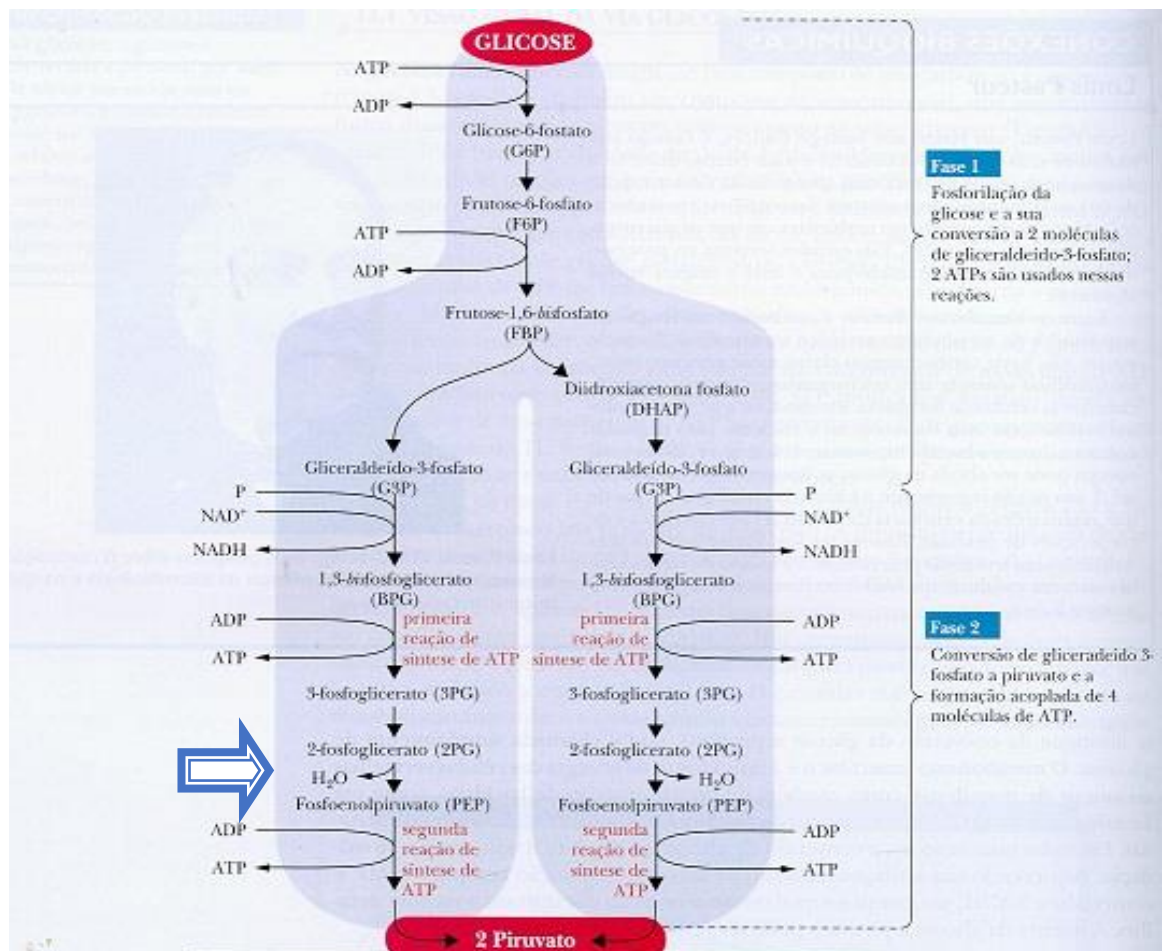
sua massa total e forma uma barreira entre dois compartimentos líquidos, intra e extracelular. O trânsito entre estes compartimentos é realizado por meio de bombas, canais de trocas de íons e transporte molecular, como é o caso da glicose (MURADOR, 2007).

Para que o metabolismo eritrocitário da glicose ocorra, é estabelecido um fluxo glicolítico, onde a glicose permeia para o interior da célula e o ácido láctico produzido é excretado para o meio extracelular (BACILA, 1989).

A glicólise é o processo de degradação anaeróbica da glicose produzindo piruvato e posteriormente ácido láctico. Neste processo ocorre produção de energia em forma de ATP. Servindo, por isso, na maioria dos animais, como um importante mecanismo de emergência, capaz de produzir energia por períodos curtos quando não há oxigênio disponível. A medida que o ATP transfere sua energia para outras moléculas, perde seu grupo de fosfato terminal e se transforma na adenosina-difosfato, ou ADP, que é a contrapartida pobre em energia do ATP. A energia livre será empregada para promover vários tipos de trabalhos celulares, como na biossíntese de componentes celulares, transporte de substâncias na célula, e o trabalho mecânico da contração e locomoção, ou pode ser redirecionada para o ADP, que recuperando um grupo de fosfato se torna ATP novamente (SCHMIDT *et al.*, 2007; LEHNINGER, 1978).

De acordo com Lehninger (1978) a glicólise é catalisada pela ação subsequente de um conjunto de onze enzimas, que acredita-se estar localizado na porção solúvel do citoplasma, baseando-se na facilidade de extração dessas enzimas. A glicólise anaeróbica se divide em dois estágios principais. No primeiro estágio, a glicose é preparada para seu catabolismo, pela fosforilação, e em seguida, clivada para originar o açúcar de três carbonos chamados gliceraldeído-3-fosfato; e no segundo estágio, o gliceraldeído-3-fosfato é convertido a lactato, formando-se ATP a partir de ADP. A enzima enolase participa do segundo estágio, convertendo o 2-fosfoglicerato a fosfoenolpiruvato, uma molécula altamente energética, através da remoção de água dos átomos de carbono 2 e 3 do ácido 2-fosfoglicérico (Figura 1).





**Figura 2.** Via glicolítica.  
**Fonte:** LEHNINGER, A.L.

Um das notáveis particularidades bioquímicas das aves é o fato de possuírem glicose compartimentalizada, principalmente no plasma, atingindo concentrações elevadas se comparadas a glicose plasmática de mamíferos. Fato evidenciado no estudo comparativo de Riegel (1975), onde as aves tiveram maiores concentrações de glicose e menor taxa de consumo, quando comparadas a cães, ovinos, bovinos, equinos e cobaias. O que deve estar ligado a reduzida capacidade dos eritrócitos de aves em metabolizar a glicose (BACILA, 1989).

Em contraste com seu metabolismo de carboidratos prejudicado, foi demonstrado que os eritrócitos de galinhas têm todo o conjunto de enzimas glicolíticas. Ressaltando-se ainda, possuírem um perfil enzimático muito particular quando comparados com as mesmas enzimas do fígado de frango ou dos eritrócitos humanos, conhecidas por apresentarem atividade glicolítica muito ativa (ROSA *et al.*, 1983).

Foi demonstrado por Rosa *et al.* (1983) que na presença de triosefosfato, principalmente 2,3-fosfoglicerato ou 3-fosfoglicerato e 2-fosfoglicerato, ocorrem aumentos consideráveis na produção de ácido láctico pelos eritrócitos de aves.

Considerando que a maquinaria de transformação de energia dos seres vivos é formada inteiramente de moléculas orgânicas, frágeis e instáveis, que são incapazes de suportar intactas à temperaturas elevadas, mudanças de meio, correntes elétricas intensas, condições extremamente ácidas ou básicas, e diversas outras condições ainda não elucidadas (LEHNINGER, 1978). E que, especialmente nas aves, vários processos podem interferir nos parâmetros bioquímicos, alguns deles durante a colheita ou processamento, por adição de conservantes e outras substâncias específicas, manipulação ou transporte das amostras sanguíneas, e como já mencionado, há um vasto campo de particularidades ainda não elucidadas. Sendo assim, para garantir a qualidade do diagnóstico, é necessário o aperfeiçoamento constante destes procedimentos (VILA, 2013).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo Geral

Analisar o efeito do tempo, temperatura e uso do fluoreto de sódio sobre a glicólise das hemácias de galinhas (*Gallus gallus domesticus*) e codornas (*Coturnix coturnix japonica*).

#### 3.2. Objetivos específicos

Promover o aperfeiçoamento da técnica de determinação da glicemia nas espécies *Gallus gallus domesticus* e *Coturnix coturnix japonica*;

Estabelecer um protocolo para dosagem bioquímica da concentração sanguínea de glicose, nas espécies *Gallus gallus domesticus* e *Coturnix coturnix japonica*.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), e está registrado sob os seguintes protocolos institucionais: 027/15 e 092/2016.

### 4.1 Animais experimentais

Foram utilizadas 60 codornas (*Coturnix coturnix japonica*), oriundas da Granja Fujikura (Suzano-SP), entre 35 e 45 dias de idade, peso médio de 164,9 g, e 30 galinhas adultas (*Gallus gallus domesticus*), de faixas etárias variadas, e peso médio 1.536 g, oriundas do setor de avicultura da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, Areia-PB.

### 4.2 Colheita de sangue e processamento das amostras

Foi colhido cerca de 3 mL de sangue de cada codorna e 6 ml de cada galinha, por meio de punção cardíaca nas codornas, e punção da veia basílica nas galinhas (Figuras 2 e 3).



**Figura 3-** Colheita de sangue por punção cardíaca em codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*).

**Fonte:** Ricardo P. Lima



**Figura 4-** Colheita de sangue por punção da veia basílica em galinha (*Gallus gallus domesticus*).

**Fonte:** Débora Ferreira dos S. Angelo

Ao total foram processadas 60 amostras de codornas e 30 de galinhas, devido ao volume pequeno de sangue colhido das codornas. As amostras de cada espécie foram divididas aleatoriamente em dois grupos denominados “B”, pois permaneceram por diferentes tempos em banho-maria a 37°C, e “T, pois permaneceram por diferentes tempos em temperatura ambiente, tendo cada grupo 30 alíquotas de 3 mL.

Para a análise das amostras do grupo B, foram distribuídos 3 mL de sangue imediatamente após a colheita, entre um *eppendorf* com 10 µl de fluoreto de sódio e quatro tubos de ensaio sem qualquer substância. Para a análise das amostras que permaneceram em temperatura ambiente, 3 mL de sangue foram distribuídos entre um *eppendorf* com 10 µl de fluoreto de sódio e cinco tubos de ensaio sem qualquer substância.

As amostras com fluoreto de sódio foram centrifugadas durante 10 minutos imediatamente após a colheita (em Micro centrífuga HT, 242 G), e logo após, foi realizada a dosagem da concentração de glicose (tempo 0). A centrifugação (63 G) e leitura das amostras do grupo T, foram feitas após respectivamente 1 hora (tempo 1), 2 horas (tempo 2), 3 horas (tempo 3), 4 horas (tempo 4) e 5 horas (tempo 5) em temperatura ambiente. Enquanto as amostras do grupo B, foram centrifugadas (63 G) e separadas, respectivamente, após 30

minutos (tempo 1), 1 hora (tempo 2), 1 hora e 30 minutos (tempo 3) e 2 horas (tempo 4) em incubação a 37°C.

#### **4.3 Análises bioquímicas**

A determinação da concentração de glicose, das amostras de plasma e soro, foi realizada utilizando-se conjunto de reagentes analíticos comerciais (Labtest Diagnóstica®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) em um analisador bioquímico semi-automático (Termo plate), com comprimento de onda de 546 nm, seguindo as orientações do fabricante dos reagentes. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, Areia-PB.

#### **4.4 Análise estatística**

Foram calculadas as médias e desvio padrão das concentrações de glicose das amostras com fluoreto de sódio e sem anticoagulante separadas em diferentes tempos, de cada grupo, nas amostras de galinhas (*Gallus gallus domesticus*) e codornas (*Coturnix coturnix japonica*). E extraídos o consumo médio relativo e acumulado ou total. Para o consumo relativo foi extraída a diferença entre os valores médios de glicose em cada intervalo de tempo. E para o consumo acumulado/total foi extraído o consumo médio de glicose até cada intervalo de tempo estudado.

A avaliação estatística foi realizada no programa estatístico BioEstat 5.0, com o qual avaliou-se a normalidade dos dados e em seguida, a comparação da concentração, do consumo relativo e consumo acumulado da glicose nas amostras de plasma com fluoreto e nas amostras séricas do mesmo grupo, utilizando o teste de Friedman ou ANOVA: 2 critérios, a 5% de significância. Também foi realizada a comparação do consumo total médio de glicose após duas horas de incubação em temperatura ambiente e em banho-maria (37° C), utilizando o teste U-Mann Witney ou teste t: dados amostrais, a 5% de significância.

## 5. RESULTADOS

Nas amostras de codornas japonesas do grupo T, a concentração média de glicose no plasma com fluoreto de sódio foi menor que as concentrações médias de glicose das amostras de soro separadas nos tempos 1, 2, 3, 4 e 5 ( $p<0,05$ ) (TABELA 1). Enquanto em amostras de galinhas do grupo T, a concentração média de glicose do plasma com fluoreto de sódio foi menor, que os tempos 1, 2 e 3 ( $p<0,05$ ) (TABELA 1).

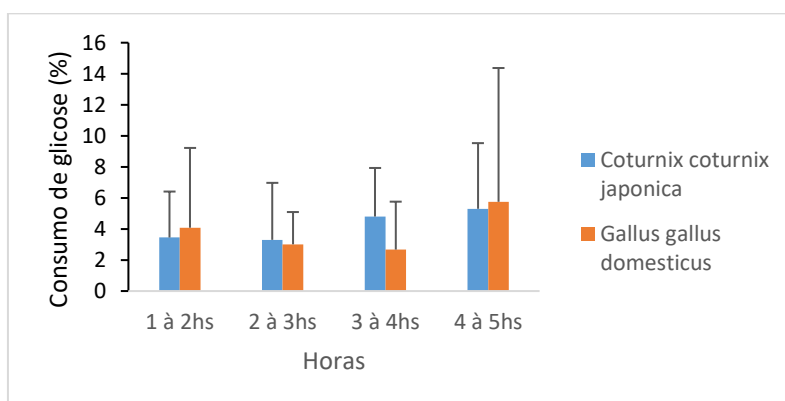
**Tabela 1.** Valores médios seguidos do desvio-padrão das dosagens de glicose *in vitro* em amostras de plasma e soro de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) e galinhas (*Gallus gallus domesticus*), mantidas em temperatura ambiente por diferentes tempos de tratamento e com fluoreto de sódio.

Tempos	Temperatura ambiente					
	0	1	2	3	4	5
<b>Glicose (g/dL)</b> <i>Coturnix coturnix japonica</i>	207,83 <sup>f</sup> ± 23,31	261,18 <sup>a</sup> ± 29,01	251,99 <sup>b</sup> ± 27,02	243,64 <sup>c</sup> ± 27,52	231,87 <sup>d</sup> ± 26,59	219,76 <sup>e</sup> ± 28,77
<b>Glicose (g/dL)</b> <i>Gallus gallus domesticus</i>	204,09 <sup>d</sup> ± 20,21	230,59 <sup>a</sup> ± 20,69	220,88 <sup>ab</sup> ± 20,45	214,19 <sup>bc</sup> ± 19,87	208,24 <sup>cd</sup> ± 18,04	196,4 <sup>e</sup> ± 25,38

Onde: tempo 0: separação do plasma imediata, tempo 1: separação do soro após 1 hora, tempo 2: separação do soro após 2 horas, tempo 3: separação do soro após 3 horas, tempo 4: separação do soro após 4 horas, tempo 5: separação do soro após 5 horas. Médias com letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste ANOVA: 2 critérios para a espécie *Coturnix coturnix japonica*, e pelo teste de Friedman para a espécie *Gallus gallus domesticus*, a 5% de significância.

No grupo T, o percentual do consumo médio de glicose por hora nas amostras de codornas foi similar em todos os tempos, não diferindo estatisticamente (3-5%), assim como nas amostras de galinhas (2-5%) (FIGURA 4).

**Figura 4.** Valores médios e desvio-padrão do consumo *in vitro* de glicose por hora, em amostras de soro de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) e galinhas (*Gallus gallus domesticus*), mantidas em temperatura ambiente, em diferentes tempos.



Quando se observou o consumo médio de glicose, entre os tempos 0 e 1, das amostras de codornas japonesas, pertencentes ao grupo T, notou-se que ele foi superior ao observado entre os tempos 1 e 4 ( $p<0,05$ ) (TABELA 2). Nas amostras das galinhas do grupo T, o consumo médio de glicose entre os tempos 0 e 1, foi semelhante estatisticamente aos tempos 4 e 5 (TABELA 2).

**Tabela 2.** Valores médios seguidos do desvio-padrão do consumo médio de glicose em amostras plasma com fluoreto de sódio e soro de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) e galinhas (*Gallus gallus domesticus*), mantidas em temperatura ambiente em diferentes tempos de tratamento.

Intervalos	Temperatura ambiente				
	1-0	1-2	1-3	1-4	1-5
<b>Consumo total (%)</b>					
<i>Coturnix coturnix</i>	20,18 <sup>a</sup> ±	3,45 <sup>dc</sup> ±	6,76 <sup>bc</sup> ±	11,55 <sup>b</sup> ±	16,85 <sup>a</sup> ±
<i>japonica</i>	6,59	3,01	5,43	6,06	6,76
<b>Consumo total (%)</b>					
<i>Gallus gallus</i>	11,42 <sup>ab</sup> ±	4,08 <sup>dc</sup> ±	7,09 <sup>c</sup> ± 4,9	9,76 <sup>b</sup> ±	15,52 <sup>a</sup> ±
<i>domesticus</i>	5,00	5,14		5,43	10,31

Onde: intervalo 1-0: consumo médio entre plasma separado imediatamente e soro separa após 1 hora, intervalo 1-2: consumo médio entre 1 e 2 horas, intervalo 1-3: consumo médio entre 1 e 3 horas, intervalo 1-4: consumo médio entre 1 e 4 horas, intervalo 1-5: consumo médio entre 1 e 5 horas. Médias com letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Friedman a 5% de significância.

Nas amostras de codornas japonesas, do grupo B, a concentração média de glicose no plasma com fluoreto de sódio não diferiu estatisticamente da concentração de glicose das amostras de soro dosadas após o tempo 3 (TABELA 3). E nas amostras de galinha, a concentração média de glicose das alíquotas com fluoreto de sódio também não diferiu estatisticamente do tempo 3, e foi menor que as amostras do tempo 1 ( $p<0,05$ ) (TABELA 3).



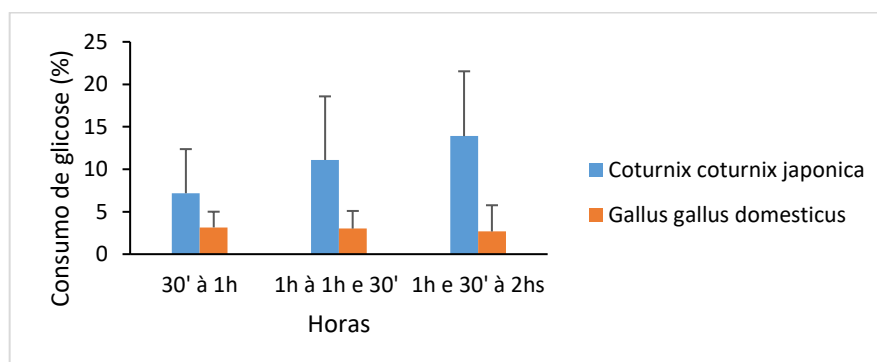
**Tabela 3.** Valores médios seguidos do desvio-padrão das dosagens de glicose *in vitro* em amostras de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) e galinhas (*Gallus gallus domesticus*), mantidas incubadas em banho-maria à 37° C por diferentes tempos de tratamento e com fluoreto de sódio.

Tempos	Banho-maria				
	0	1	2	3	4
<b>Glicose (g/dL)</b>					
<i>Coturnix coturnix japonica</i>	213,7 <sup>c</sup> ± 21,24	246,2 <sup>a</sup> ± 22,55	228,62 <sup>b</sup> ± 25,22	203,89 <sup>c</sup> ± 32,74	176,18 <sup>d</sup> ± 34,61
<b>Glicose (g/dL)</b>					
<i>Gallus gallus domesticus</i>	245,13 <sup>c</sup> ± 18,02	260,99 <sup>a</sup> ± 21,81	252,77 <sup>b</sup> ± 21,64	245,29 <sup>c</sup> ± 22,54	234,31 <sup>d</sup> ± 24,26

Onde: tempo 0: separação do plasma imediata, tempo 1: separação do soro após 30 minutos, tempo 2: separação do soro após 1 hora, tempo 3: separação do soro após 1 hora e 30 minutos, tempo 4: separação do soro após 2 horas. Médias com letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste ANOVA: 2, a 5% de significância.

Quando se analisou o consumo de glicose a cada 30 minutos das amostras de soro de codornas, do grupo B, notou-se que o consumo médio de glicose no intervalo 2-1 foi menor que o consumo entre os intervalos 3-2 e 4-3 ( $p<0,05$ ) (FIGURA 5). Nas amostras de galinha, este foi estável, não diferindo estatisticamente. Com consumo médio de 2-4% (FIGURA 5).

**Figura 5.** Valores médios e desvio-padrão do consumo médio de glicose *in vitro* por hora em amostras de soro de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) e galinhas (*Gallus gallus domesticus*), mantidas em incubação à 37° C, por diferentes tempos.



Quando se observou a diferença na concentração média de glicose, entre os tempos 0 e 1, das amostras de codornas japonesas e galinhas, do grupo B, notou-se que elas não diferiram estatisticamente do consumo médio do intervalo 1-3 e foram maiores que o consumo do intervalo 1-2 ( $p<0,05$ ) (TABELA 4).

**Tabela 4.** Valores médios seguidos do desvio-padrão do consumo acumulado de glicose em amostras de plasma com fluoreto de sódio e soro de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) e galinhas (*Gallus gallus domesticus*), mantidas em incubação à 37° C, em diferentes tempos de tratamento.

Intervalos	Banho-maria			
	1-0	1-2	1-3	1-4
<b>Consumo total (%)</b>				
<i>Coturnix coturnix japonica</i>	13,35 <sup>b</sup> ± 5,68	7,17 <sup>c</sup> ± 5,2	18,26 <sup>b</sup> ± 10,35	32,16 <sup>a</sup> ± 15,33
<b>Consumo total (%)</b>				
<i>Gallus gallus domesticus</i>	5,96 <sup>b</sup> ± 2,86	3,15 <sup>c</sup> ± 1,85	6,14 <sup>b</sup> ± 2,46	10,69 <sup>a</sup> ± 4,01

Onde: intervalo 1-0: consumo médio entre plasma separado imediatamente e soro separa após 30 minutos, intervalo 1-2: consumo médio entre 30 minutos e 1 hora, intervalo 1-3: consumo médio entre 30 minutos e 1 hora e 30 minutos, intervalo 1-4: consumo médio entre 30 minutos e 2 horas. Médias com letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Friedman a 5% de significância.

Foi visto também, que as amostras do grupo B tiveram um consumo médio de glicose, cerca de nove vezes maior, que o consumo médio de glicose das amostras do grupo T, separadas até duas horas, nas amostras de codornas, e cerca de duas vezes entre as amostras de galinhas ( $p < 0,05$ ) (TABELA 5).

**Tabela 5.** Valores médios seguidos do desvio-padrão do consumo total de glicose em até duas horas de amostras de soro de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) e galinhas (*Gallus gallus domesticus*), mantidas até duas horas em temperatura ambiente e em incubação de 37°C.

Temperatura ambiente X Banho-maria		
Intervalo	1-2 Temperatura ambiente	1-4 Banho-maria
<b>Consumo total (%)</b>		
<i>Coturnix coturnix japonica</i>	3,45 <sup>b</sup> ± 3,1	32,16 <sup>a</sup> ± 15,33
<b>Consumo total (%)</b>		
<i>Gallus gallus domesticus</i>	4,08 <sup>b</sup> ± 5,14	10,69 <sup>a</sup> ± 4,01

Onde: 1-2: consumo médio entre 1 e 2 horas, 1-4: consumo médio entre 1 e 4 horas. Médias com letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Mann-whitney a 5% de significância.

Os resultados mostram que a concentração média de glicose *in vitro* nas amostras de sangue das aves estudadas, é influenciada pela adição do fluoreto de sódio, pelo tempo entre a colheita e separação do soro, e pela temperatura a qual a amostra é tratada.

## 6. DISCUSSÃO

O fluoreto de sódio é uma substância adicionada em amostras de sangue quando se pretende dosar a glicemia de um indivíduo, devido seu efeito antiglicolítico, baseado na inibição da enolase, uma enzima da via glicolítica (LEHNINGER, 1978). Porém, nas espécies de aves estudadas (*Coturnix coturnix japonica* e *Gallus gallus domesticus*), a concentração média de glicose nas alíquotas de plasma fluoretado, foram sempre inferiores aos valores de glicose observados nas amostras de soro, separadas após o tempo 4 em temperatura ambiente, e após o tempo 2 em incubação a 37°C. O que indica a ineficácia do uso dessa substância em amostras de aves, uma vez que ela não preserva a glicose das amostras.

Neste trabalho foi observado que o fator tempo é uma variável relevante, assim como o que ocorre em amostras de sangue de humanos e bovinos (BECHER, 1984; BERNARDINO *et al.*, 2013), indicando que quanto menor o tempo entre a colheita e análise bioquímica da amostra, mais fidedigno o resultado. Também é possível observar, que os maiores níveis de glicose e as menores taxas de consumo total de glicose *in vitro*, foram vistas nas amostras de soro separadas em até 1 hora, em ambos os grupos e espécies estudadas, o que indica esse limite de tempo como o melhor, para obtenção da concentração de glicose mais próxima do valor real da amostra.

A queda na concentração de glicose das amostras com fluoreto foi maior que nas amostras de soro, para os dois tratamentos e espécies. Efeito similar não foi descrito na literatura até o momento, no entanto, esses resultados podem indicar que, além de não ser eficaz, o fluoreto pode estar intensificando o consumo desse nutriente, agindo como um catalizador da cadeia glicolítica.

Um aumento de 2 a 9 vezes no consumo de glicose, das amostras incubadas em banho-maria por até duas horas foi observado nesse estudo. Esse aumento, comparado com a concentração em temperatura ambiente, indica que o tratamento adotado também pode influenciar a concentração de glicose *in vitro*. Neste caso, o fator relevante foi o aumento da temperatura das amostras, que acelerou a glicólise, sendo mais indicado manter a amostra em temperatura ambiente durante a retração do coágulo para evitar erros nos resultados do exame, assim como verificado nas amostras de bovinos (BERNARDINO *et al.*, 2013).

Segundo Lehninger (1978) há duas formas gerais por meio das quais a velocidade de uma reação química pode ser aumentada. Uma delas é o aumento da temperatura, que eleva o número de moléculas em estado de transição, acelerando, assim, as reações químicas. A

segunda forma é a ação de catalizadores, que quando combinados transitoriamente com reagentes produzem um estado de transição. Sabendo disso, propõe-se que a diminuição na concentração de glicose das amostras de plasma fluoretado das espécies *Gallus gallus domesticus* e *Coturnix Coturnix japonica*, esteja relacionada à provável ação catalizadora do fluoreto de sódio na via glicolítica dos eritrócitos. Uma vez que o fator temperatura, apesar de intensificar a diminuição da concentração de glicose, não pode ser o único responsável pelo fenômeno, já que as amostras que não foram submetidas a um aumento de temperatura (grupo T), também tiveram quedas significativas na concentração de glicose.

Apesar de haver estudos elucidativos a respeito do metabolismo dos eritrócitos de aves (ROSA et al., 1983; BACILA, 1989). A relação dessas células e demais constituintes do sangue com o fluoreto de sódio ainda não foi explorada o suficiente, havendo necessidade de novas pesquisas bioquímicas que esclareçam as questões aqui expostas.

## 7. CONCLUSÕES

Os resultados expostos e discutidos, conduzem a dedução de que o fluoreto de sódio não foi eficaz em inibir o consumo de glicose *in vitro*, não devendo ser indicado para amostras de sangue de *Coturnix coturnix japonica* e *Gallus gallus domesticus*, destinadas a dosagem da glicose plasmática, por interferir de forma significativa na concentração real desse nutriente. Sendo necessário, no entanto, estudos bioquímicos que esclareçam os mecanismos envolvidos nesse evento. A temperatura e tempo para processamento da amostra também alteram o valor real da concentração de glicose da amostra. Sendo procedimento ideal para dosar a glicemia desses animais, dosar em amostras de soro, deixadas em temperatura ambiente, por no máximo 1 hora.

## 8. REFERÊNCIAS

ALEIXO, G.S. et al. Uso do glicosímetro portátil para determinar a concentração de glicose no sangue de cães. Recife: **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 3, 2010.

BACILA, M. **Contribuição ao Estudo do Metabolismo Glicídico em Eritrócitos de Animais Domésticos**. Curitiba, PR: UFPR, 1989. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, 1989.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/aves>>. Acesso em 21 ago. 2016.

BERCHIERE JÚNIOR, A. et al. **Doenças das aves**. 2 Ed. Campinas: Fundação APINCO de Ciências e Tecnologia Avícolas, 2009. 1104p.

BERNARDINO, M. G. S. et al. **Avaliação do consumo de glicose in vitro em bovinos**. In: II simpósio de Pós-graduação em Ciência Animal, 2013, AREIA. II Simpósio de Pós-graduação em Ciência Animal, 2013.

CAMPIONI, J.M. **Estudo de parâmetros clínicos, imunitário e do proteinograma sérico da vacinação contra a doença de Newcastle em gansos-da-china (*Anser cygnoides*). Pesquisa do estado portador do vírus e sua importância epidemiológica**. Jaboticabal, SP: 2009. 74 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. 2009.

CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CARTÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: ROCA, 2007. 1354p.

CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 596p.

EFE, M.A. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Ornitologia para a destinação de aves silvestres provenientes do tráfico e cativeiro. São Paulo: **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 14, n. 1, p.67-72, mar. 2006.

LEHNINGER, A.L. **Bioquímica**. 2 ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1978. 436p.

MEDEIROS, L.C.C. et al. **Avaliação da glicose sérica de Pinguins de Magalhães (*Spheniscus magellanicus* Forster, 1781) no Espírito Santo, Brasil**. In: Congresso Medvop de Especialidades Veterinárias, 2011, Curitiba, 2012.

MURADOR, P.; DEFFUNE, E. Aspectos estruturais da membrana eritrocitária. Botucatu: **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n. 2, p. 168-178, 2007.

NOVELINO, I.C. **Avaliação da glicemia em fragata-comum (*Fregata magnificens* MATHEWS, 1914)**. In: 42º Congresso Bras. de Medicina Veterinária e 1º Congresso Sul-Brasileiro da ANCLIVEPA, 2015, Curitiba. 1749-1753 p.

OLIVEIRA, Y.S.G. et al. Comparação entre os métodos laboratorial e portátil na análise da glicemia em felinos com amostra de sangue venoso central e capilar. Brasília: **Ciência Animal Brasileira**, v. 16, n. 2, 2015.

RIEGEL, R.E.; SERAFIM, I.M.R.; MOCELIN, R.S.P. Atividade glicolíticas *in vitro* do sangue total de algumas espécies domésticas. Santa Maria: **Rer. Centro de Ciências Rurais**, v. 5, n. 3, p. 193-198, 1975.

ROSA, R. et al. The profile of the glycolytic system and the metabolic activity of chicken Erythrocytes. Great Britain: **Comp. Biochem. Physiol**, v. 75, n. 1, p. 141-145, 1983.

RUPLEY, A.E. **Manual de Clínica Aviária**. São Paulo: Roca, 1999. 595p.

SCHMIDT, E. M. S. Et. al. Patologia clínica em aves de produção: uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola. **Curitiba: Repositório Institucional UNESP**, v. 12, n. 3. p. 9-20, 2007.

SCHOSSLER, J.E.W.; SERAFINI, G.M.C.; LUCAS, S.S. Valores laboratoriais e aspectos histológicos de codornas domésticas (*Coturnix coturnix japonica*). Santa Maria: **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, ano XI, n. 21, 2013.

THRALL, M.A. et. al. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. 582p.

VALLE, S.F. et al. Parâmetros de bioquímica sérica de machos, fêmeas e filhotes de Araras Canindé (*Ara Ararauna*) saudáveis mantidas em cativeiro comercial. Santa Maria: **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, p.711-716, 2008.

VILA, L.G. **Bioquímica em aves: revisão de literatura**. 2013. 56 p. Seminário apresentado junto à disciplina Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação – Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2013.